

Pilze **in Medizin und Umwelt**

GIT-Supplement 5/83 · G-I-T VERLAG ERNST GIEBELER

Inhalt:

Medizinische Mykologie – eine aufstrebende Fachrichtung • Im Wettlauf mit der Entwicklung • IMIDAZOL-Präparate • Bifonazol • Fortschritt in der Therapie • Ketoconazol • Onychomykosen • Nystatin • Pilzsporen als Allergene • Vergleichende Difusionsteste • Amphotericin B • Griseofulvin • Differenzierende Therapie • Karies-Candidose • „mykorapid“ • Igelpilze • Strahlenpilzforschung in Deutschland
Der Rudolf-Lieske-Förderpreis • WHO-Empfehlungen • Produkt-Informationen



Optimale Wirksamkeit von Nystatin bei schwach sauren pH-Werten

Optimal activity of nystatin at weakly acidic pH values

H. BEGEMANN, Hamburg *)

Zusammenfassung

Säure bietet keinen Schutz vor Mykosen. Durch Reihenverdünnungen von Nystatin mit gepufferten Kimmig-Nährlösungen konnte gezeigt werden, daß der pH-Bereich für eine optimale Nystatin-Wirkung zwischen pH 4 und pH 6 liegt. Auch außerhalb dieser Spanne wurde kein vollständiger Verlust der antimycetischen Wirkung festgestellt.

Summary

Acid does not offer protection against mycoses. Using serial dilutions of nystatin in buffered Kimmig nutrient solutions, it was shown that nystatin displayed its optimal activity in the range between pH 4 and pH 6. Complete loss of antimycotic activity was not, however, observed, outside these limits.

Einleitung

Die Frage, ob das hefespezifische Antimykotikum Nystatin auch im sauren Milieu erfolgversprechend eingesetzt werden kann, stellt sich, wenn aus Magen, Blase oder Vagina Hefen isoliert werden. Oft wird in der Praxis oder in der Klinik erst spät daran gedacht, daß säureresistente Hefen im Urogenitaltrakt oder im Gastrointestinaltrakt Krankheitserscheinungen unterhalten können. Kann Nystatin in diesen Fällen mit Aussicht auf Heilung zur Therapie eingesetzt werden?

Nystatin gegen Hefepilze

Zum klassischen Erregerspektrum, gegen das Nystatin vor allem eingesetzt wird, zählen Hefen, pathogene wie apathogene. Alle Hefepilze sind nystatinempfindlich.

*) Dr. Harald Begemann, Bünte 12f, 2100 Hamburg 90

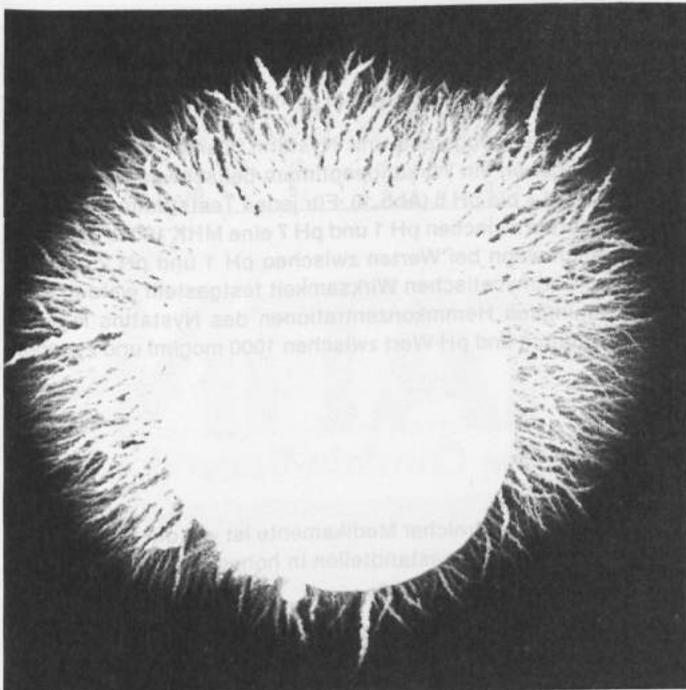


Abb. 1: *Candida albicans* auf Kimmig-Agar

Nystatin wird zur inneren und äußeren lokalen Therapie bei Schleimhautlevurosen eingesetzt. Von den Schleimhäuten des Intestinums sowie des Urogenitale isoliert man am häufigsten *Candida albicans* (Abb. 1), jedoch spielen auch andere *Candida*-Arten und andere Hefegattungen eine Rolle, so daß der Untersuchungsbefund „*Candida*“ ungenügend ist.

Gelegentlich können auch apathogene Hefen und Schimmelpilze isoliert werden. Dazu ist es wichtig zu wissen, daß auf den Selektiv- und Elektivnährböden für pathogene Hefen durchaus auch apathogene Pilze wachsen.

Eigene Untersuchungen

Die antimycetische Wirksamkeit von Nystatin (Abb. 2) bei sauren pH-Werten wurde an folgenden Pilzen geprüft: 2 Stämme *Candida albicans* und je ein Stamm *Candida tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Candida robusta* (Bäckerhefe) und *Geotrichum candidum* (Milchschnitzpilz). Alle Pilze wurden nach Mikromorphologie und physiologischen Leistungen bestimmt und entstammen eingesandtem Untersuchungsmaterial.

Reihenverdünnungstest mit Nystatin

Es gibt verschiedene Verfahren, die antimycetische Wirksamkeit einer Substanz zu untersuchen. HUSSAIN [5] testete Nystatin mit Hilfe des Lochtestes, indem er die Hemmhofdurchmesser als Maßstab zugrundelegte.

Für die vorliegende Arbeit wurde ein Reihenverdünnungstest entwickelt, bei dem Nystatin Reinsubstanz in die flüssige Nährlösung gegeben wurde.

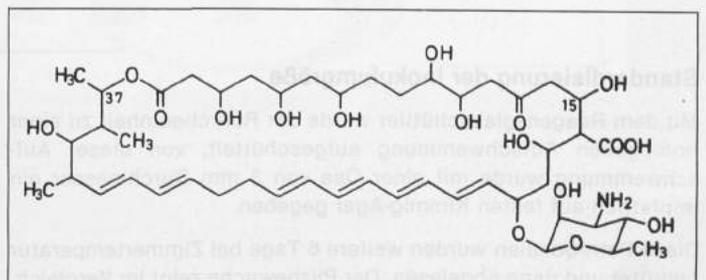


Abb. 2: Strukturformel von Nystatin

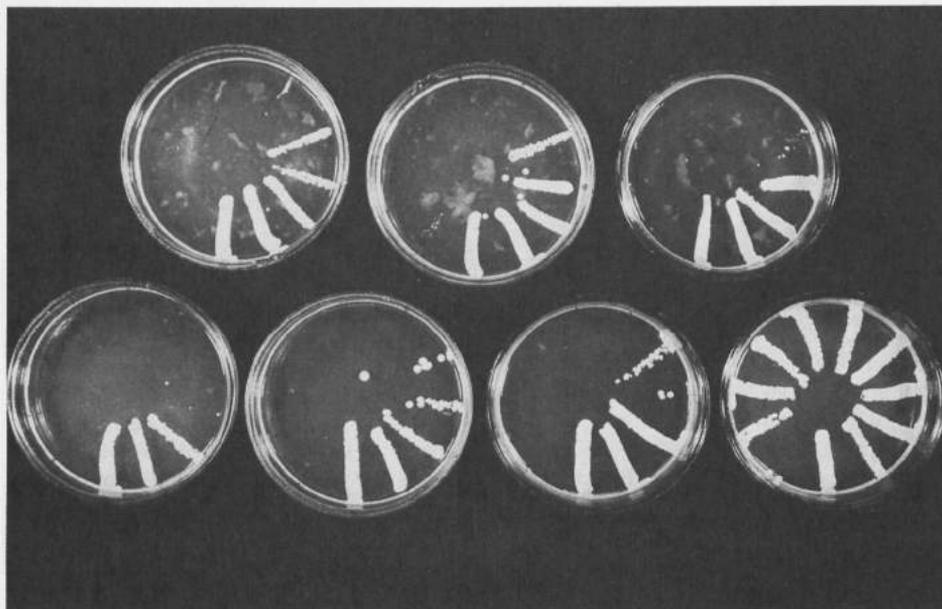
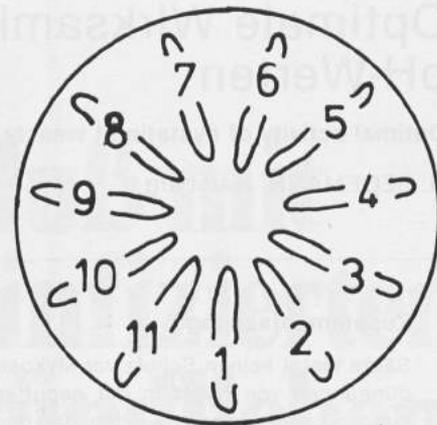


Abb. 3: Ableseplatten der Röhrenverdünnungsteste mit nystatinhaltigen, gepufferten Nährlösungen gegenüber *Candida albicans* (19889); die 7 pH-Werte sind von oben links (pH 7) nach unten rechts (pH 1) angeordnet; der Teststamm wurde nach einem Tag Einwirkzeit in der Nährlösung auf die Platten verimpft; für die Anordnung der verschiedenen Konzentrationen auf den Platten siehe die Skizze.



Zu Abb. 3:

- 1 Kontrolle, ungepuffert, ohne Nystatin
- 2 Kontrolle, gepuffert, ohne Nystatin
- 3 Nystatin, gepuffert, 2 mcg/ml
- 4 Nystatin, gepuffert, 5 mcg/ml
- 5 Nystatin, gepuffert, 10 mcg/ml
- 6 Nystatin, gepuffert, 20 mcg/ml
- 7 Nystatin, gepuffert, 50 mcg/ml
- 8 Nystatin, gepuffert, 100 mcg/ml
- 9 Nystatin, gepuffert, 200 mcg/ml
- 10 Nystatin, gepuffert, 500 mcg/ml
- 11 Nystatin, gepuffert, 1000 mcg/ml

Hohe Nystatinkonzentrationen in der Nährlösung verhindern das Wachstum des Teststammes, niedrige Konzentrationen lassen noch Wachstum zu. Beobachtet man eine Reihe von Zwischenverdünnungen gleichzeitig, wie es bei dem Reihenverdünnungstest geschieht, ist es relativ leicht möglich, die niedrigste der Konzentrationen zu bestimmen, die noch ausreicht, das Pilzwachstum total zu hemmen. Diese Konzentration wird bekanntlich als die „Minimale Hemmkonzentration“ (MHK 100%) bezeichnet.

Pufferung der Nährlösungen

Der pH-Wert der Nährlösungen im Reihenverdünnungstest wurde mit gebrauchsfertigen Puffern (Titrisol®/Merck) auf die sauren pH-Werte von pH 1 bis pH 7 eingestellt (damit der pH-Wert nicht während des Versuches durch Stoffwechselprodukte der Pilze verschoben werden konnte).

Der Teststamm wurde in etwa 4 ml der gepufferten Kimmig-Nährlösung verimpft. Für die Beurteilung mußten die Röhreninhalte abgeimpft werden, da das Wachstum der Pilze im flüssigen Medium kaum quantifiziert werden kann. Abgeimpft wurde nach einem und nach 6 Tagen Bebrütungsdauer [1] auf festen Kimmig-Agar in Petrischalen (Abb. 3).

Standardisierung der Inokulumgröße

Mit dem Reagenzglasschüttler wurde der Röhreninhalt zu einer homogenen Aufschwemmung aufgeschüttelt, von dieser Aufschwemmung wurde mit einer Öse von 3 mm Durchmesser ein Impfstrich auf festen Kimmig-Agar gegeben.

Diese Petri-Schalen wurden weitere 6 Tage bei Zimmertemperatur bebrütet und dann abgelesen. Der Pilzbewuchs zeigt im Vergleich, wieviele Pilzteilchen in den Nährlösungen noch lebensfähig waren.

Ergebnisse

Hefen wuchsen bei Werten von pH 1 bis über 7.

Vergleicht man das Wachstum der Pilze aus den ungepufferten Kontrollröhren mit dem der Pilze aus den gepufferten, zeigt sich kein Unterschied der Lebensfähigkeit bei pH-Werten zwischen pH 2 und pH 7. Die Teststämme, die durch Puffer beeinflusst wurden, wuchsen ungeschädigt wie die Stämme, die mit dem Puffer nicht in Berührung kamen.

Lediglich bei pH 1 findet sich bei einigen Stämmen abgeschwächtes Wachstum, abgetötet wurde nur die *Candida robusta* (Bäckerhefe), eine nicht pathogene *Candida*-Art.

Nystatin ist optimal wirksam bei pH-Werten von pH 4 bis pH 6

Die Reihenverdünnungsteste mit Nystatin (Candio-Hermal® Reinsubstanz) ergaben ein Wirkungsoptimum bei schwach sauren pH-Werten um pH 4 bis pH 6 (Abb. 4). Für jeden Teststamm konnte bei allen pH-Werten zwischen pH 1 und pH 7 eine MHK 100% gefunden werden, auch wenn bei Werten zwischen pH 1 und pH 2 eine Abnahme der antimycetischen Wirksamkeit festgestellt werden mußte. Die minimalen Hemmkonzentrationen des Nystatins lagen je nach Teststamm und pH-Wert zwischen 1000 mcg/ml und 2 mcg/ml (Tab. 1).

Diskussion

Die Wirksamkeit zahlreicher Medikamente ist wie die optimale Verwertung von Nahrungsbestandteilen in hohem Maße vom pH-Wert des Nahrungsbreies abhängig.

Auch von anderen Autoren existieren Berichte darüber, daß Nystatin nicht bei allen pH-Werten volle Wirksamkeit behält, jedoch herrscht keine Einigkeit über das Ausmaß der Veränderungen und über pH-Werte, bei denen sie auftreten [2, 5].

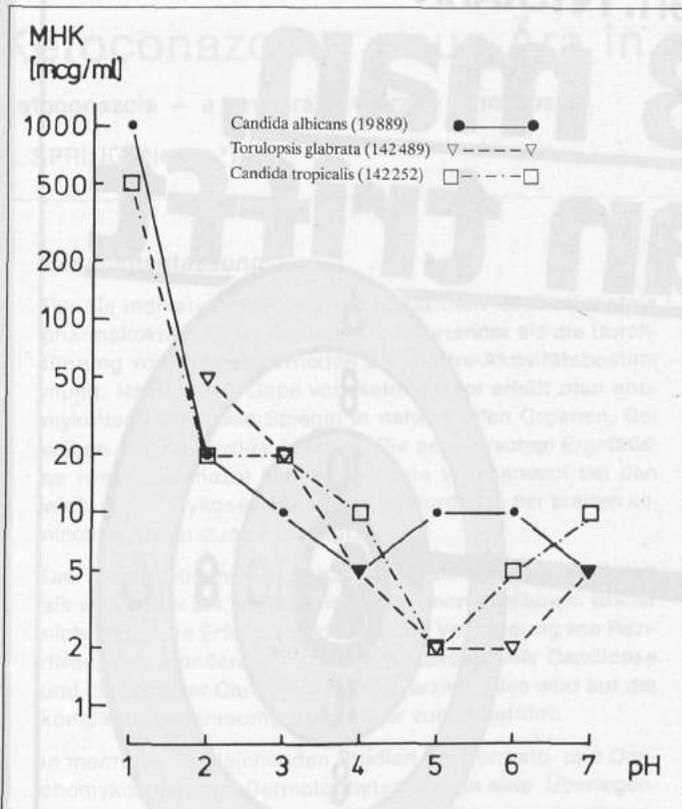


Abb. 4: Die Minimalen Hemmkonzentrationen (MHK 100%) von Nystatin (mcg/ml) in Abhängigkeit vom pH-Wert in der Nährlösung nach einer Einwirkzeit von 6 Tagen

Tab. 1: MHK 100% (in mcg/ml) von Nystatin im Röhrchentest mit gepufferten Nährlösungen nach 6 Tagen Einwirkzeit.

	Candida albicans 19 889	Candida albicans 142 864	Torulopsis glabrata 142 489	Candida tropicalis 142 252	Candida robusta 142 863	Geotrichum candidum 143 485
pH 1	1000	2	-	500	50	500
pH 2	20	10	50	20	50	100
pH 3	10	10	20	20	10	50
pH 4	5	20	5	10	5	50
pH 5	10	10	2	2	10	10
pH 6	10	5	2	5	5	10
pH 7	5	5	5	10	10	20
ungepuffert	20	5	2	10	10	20

Die vorliegende Untersuchung zeigte das Wirkungsoptimum des Nystatins bei pH-Werten zwischen pH 4 und pH 6; damit erscheint es besonders vorteilhaft zur Behandlung einer Pilzbesiedelung in schwachsaurem Milieu.

Bei starksaurem Milieu bieten sich folgende Möglichkeiten an:

1. Der pH-Wert, bei dem das Nystatin optimal wirksam ist, wird angestrebt durch Verschiebung des pH-Wertes im umgebenden Medium.
2. Durch eine höhere Dosierung des Nystatins wird der Wirkungsverlust soweit ausgeglichen, daß Heilung eintritt.

Durch diätische Maßnahmen kann auch bei einer Pilzbesiedelung des Magens, in dem pH-Werte von pH 1,5 bis pH 3,5 herrschen können, Heilung durch Nystatin erreicht werden. Dabei muß Säureaufnahme, insbesondere die Aufnahme der starken Fruchtsäuren, gemieden werden. Da das Hefewachstum durch Kohlenhydrate gefördert wird, ist deren Zufuhr einzuschränken. Zusätzlich können basische Mineralwässer und puffernde Getränke, wie zum Beispiel Milch, helfen, den pH-Wert in den schwachsauren und damit in den für Nystatin optimalen pH-Bereich anzuheben.

Nystatin kann auch bei oraler Aufnahme risikolos höher dosiert werden, da es praktisch nicht resorbiert wird und somit keine Nebenwirkungen auftreten. Durch eine Korrektur der Dosisvorschrift kann also auch dann eine Heilung erreicht werden, wenn in Einzelfällen einmal eine Anhebung des pH-Wertes nicht angebracht erscheint.

Literatur

- [1] BEGEMANN, H.: Säureeinfluß auf Nystatin und Amphotericin B. Der Einfluß des pH-Wertes im Nährboden auf die antimycetische Wirksamkeit der Antimykotika Nystatin und Amphotericin B in modifizierten Reihenverdünnungstesten. *notabene medici* 13(8), 657 – 663 (1983)
- [2] HAMILTON-MILLER, J. M. T.: The effect of pH and of temperature on the stability and bioactivity of nystatin and amphotericin B. *J. Pharm. Pharmac.* 25, 401 – 407 (1973)
- [3] HAZEN, Elizabeth L., Rachel BROWN: Two antifungal agents produced by a soil actinomycete. *Science* 112, 423 (1950)
- [4] HAZEN, Elizabeth L., Rachel BROWN: Fungicidin, an antibiotic produced by a soil actinomycete (18397). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 76(1), 93 – 97 (1951)
- [5] HUSSAIN, H., C. CASTEN: Die antimykotische in-vitro-Wirkung einer nystatinhaltigen Suspension unter Magensaft einfluß unterschiedlicher pH-Werte und Einwirkungszeiten. *mykosen* 24(2), 97 – 101 (1981)
- [6] RIETH, H.: Hefe-Mykosen. Erreger – Diagnostik – Therapie. München, Berlin, Baltimore: Urban & Schwarzenberg, 1979
- [7] RIETH, H., M. REFAI, H. BEGEMANN: Pilzdiagnostik – Mykosen Therapie, Band III, 1153. *Melsungen: notabene medici* 1982